

ผลสำเร็จของการย้ายฝากตัวอ่อนโคเนมพันธุ์แท้ในประเทศไทย

สัมพันธ์ สิงห์จันทร์,¹ วรณดา สุจริต,² สมุทร ศิริเวทพันธุ์,²
และ จำเริญ ธัญญพันธุ์²

SUCCESS OF EMBRYO TRANSFER IN PURE BREED DAIRY CATTLE IN THAILAND

*Samphan Singhajan,¹ Vanda Sujarit,² Samutra Sirivejapanda²
and Chamnean Satayapunt²*

ABSTRACT : Superior stock of the donor is an important factor for the genetic improvement utilizing embryo transfer technology. Recently purebred cattle has become favorite to the farmer particularly the Holstein-Friesian.

Therefore, pure breed of Holstein-Friesian, compliments of the Adago Co. to His Majesty the King, at Nong - Po Dairy Cooperative was selected as a donor. Follicle stimulating hormone 40 mg was administered to induce superovulation. Following the artificial insemination, embryo at the age of 7 days was collected. The collected embryos were 5 excellent, 1 fair and 1 underdeveloped embryos. Six embryos were transplanted to the womb of recipients. Two recipients were calving at October 14, 1988, sole calve, birth weight 28 kgs and the another birth at October 24, 1988, female calve, birth weight 30 kgs.

บทคัดย่อ : ชั้นคอนที่สําคัญคือนหนึ่งของเทคนิคการย้ายฝากตัวอ่อนคือ การคัดเลือกตัวให้ (Donor) จากการที่ได้ประสบความสำเร็จในการย้ายฝากตัวอ่อนในโคนมลูกผสมมาแล้ว ประกอบกับปัจจุบันเกษตรกรได้ให้ความสนใจเลี้ยงโคนมพันธุ์แท้กันมาก โดยเฉพาะโคพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเซียน ซึ่งมีประวัติการให้แมสูง เลี้ยงง่าย และเป็นที่ยอมรับของเกษตรกร จึงได้มีการศึกษาการย้ายฝากตัวอ่อนโคนมพันธุ์แท้ขึ้น.

ได้ทำการอ้างเก็บตัวอ่อนจากโคพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเซียนเมื่อ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งบริษัทแอสโก้ จำกัด ได้น้อมเกล้าถวายพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว และทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้สหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จำกัด เลี้ยงไว้.

¹ ศูนย์การผสมเทียมปทุมธานี, พ.บางบาล, อ.เมือง จ.ปทุมธานี 12000.

² คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 10900.

¹ Artificial Insemination Research Center Ratchaburi, Bang-ga-dee, Muang District, Pratumtani 12000.

² Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok 10900.

ใช้ฮอร์โมน Follicle Stimulating Hormone จำนวน 40 มก. กระตุ้นให้มีการสร้างไข่จำนวนมากหลังจากการผสมเทียมแล้ว ทำการล้างเก็บลูกอ่อนอายุ 7 วัน เมื่อวันที่ 20 มกราคม 2531 ได้ลูกอ่อนจำนวน 7 ตัว มีคุณภาพดีเลิศ 5 ตัว คุณภาพใช้ได้ 1 ตัว และไม่เจริญ 1 ตัว ทำการฝากให้กับตัวรับจำนวน 6 ตัว มีผลการตั้งท้อง 2 ตัว ตัวรับฝากตัวหนึ่งคลอดลูกเป็นเพศผู้เมื่อวันที่ 14 ตุลาคม 2531 น้ำหนักแรกเกิด 28 กิโลกรัม และตัวรับฝากอีกตัวหนึ่งคลอดลูกเมื่อวันที่ 24 ตุลาคม 2531 เพศเมีย น้ำหนักแรกเกิด 30 กิโลกรัม.

คำนำ

ความก้าวหน้าทางวิชาการใหม่ๆ สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ หรือเพิ่มผลผลิตสัตว์ให้สูงขึ้นได้ เช่น การผสมเทียม ทำให้สามารถใช้พ่อพันธุ์ได้มากกว่าการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ สำหรับแม่พันธุ์ที่ดินั้น วิธีการที่จะช่วยทำให้แม่พันธุ์สามารถขยายพันธุ์ได้มากขึ้นกว่าปกติวิธีหนึ่งคือ การถ่ายฝากตัวอ่อน โดยอาศัยหลักการง่ายๆ คือ ทำให้แม่พันธุ์มีการตกไข่ครั้งละหลายๆ ฟอง แล้วผสมพันธุ์ด้วยน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ที่ดี ล้างเก็บตัวอ่อนแล้วนำไปถ่ายฝากให้กับสัตว์เพศเมียที่พันธุ์ไม่ดี วิธีการดังกล่าวจะทำให้ได้ลูกที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีครั้งละหลายตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โค กระบือ ซึ่งปกติให้ลูกเพียงปีละตัวจะสามารถให้ลูกได้หลายตัวในปีหนึ่ง ถึงแม้จะใช้หลักการที่ไม่สลับซับซ้อน แต่ในทางปฏิบัติจำเป็นต้องใช้เทคนิคและวิธีการที่รัดกุมจึงจะประสบความสำเร็จ ในประเทศไทยได้มีการศึกษาและทดลองทำการถ่ายฝากตัวอ่อนในโคและกระบือ ตั้งแต่ปี พ.ศ.2524 จนถึงปัจจุบัน ปรากฏว่ามีรายงานการคลอดของโคที่เกิดจากจากถ่ายฝากตัวอ่อนแช่แข็งโดยวิธีสัลยกรรม 1 ตัว และตั้งท้องจากการถ่ายฝากตัวอ่อนสดและตัวอ่อนแช่แข็งโดยวิธีนิวเคลียร์กรรม 18 ตัว จะเห็นได้ว่าไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร.

ดังนั้นจึงควรที่จะทำการศึกษาค้นคว้าเทคนิคและวิธีการถ่ายฝากตัวอ่อนให้มากขึ้น เพื่อนำมาใช้ในการผลิตสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโคนมเพื่อเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้นในอนาคต.

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สัตว์ทดลอง : โคนมพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเซียน (Holstein Friesian) พันธุ์แท้, อายุประมาณ 3 ปี เคยให้ลูกแล้ว 1 ตัว จำนวน 1 ตัว เป็นโคตัวให้ (Donor). โคตัวรับ (Recipients) เป็นโคโฮลสไตน์ ฟรีเซียน เลือด 75 เปอร์เซนต์ ของสมาชิกศูนย์วิจัยการผสมเทียมราชบุรี จำนวน 6 ตัว อายุประมาณ 3-10 ปี เคยให้ลูกมาแล้ว.

โรงเรือน : มีลักษณะโปร่ง, หลังคามุงกระเบื้อง, พื้นซีเมนต์ แบ่งเป็นช่อง ขนาด 1.2 x 1.5 เมตร เรียงกัน แต่ละช่องมีโซ่ล่ามประจำ ที่ด้านหน้ามีรางอาหาร และหญ้า การเติมน้ำเจ้าของสัตว์ดักน้ำใส่กระป๋องไว้ให้ดื่ม.

อาหารสัตว์ : อาหารหยาบเป็นหญ้าสด และต้นข้าวโพด ส่วนอาหารข้นใช้อาหารของสัตว์อื่น ๆ หนองโพ มีโปรตีนประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์.

ฮอร์โมน : ไข่ Follicle Stimulating Hormone สกัดจากต่อมใต้สมองสุกร (Porcine) ต่อไปนี้เรียกว่า FSH-P และ Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$; Lutalyse, Upjohn).

อุปกรณ์ในการล้างและเก็บตัวอ่อน : Cervix dilator เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซม. ยาว 50 ซม.; Rushch Foley catheter no. 18 ยาว 67.4 ซม. ปลายห่างจาก Cuff 4.8 ซม. (มีรูให้น้ำผ่านเข้าออก 4 รู); สายน้ำเกลือสำหรับเป็นท่อให้น้ำยาไหลเข้าออก; Three-way plastic connector; 3 Artery forceps; Syringe ขนาด 1 มล. 1 อัน, ขนาด 5, 10, 20 และ 50 มล. อย่างละ 2 อัน; เข็มเบอร์ 18 หนึ่งโหล; กระบอกตวงขนาด 500 มล. 2 อัน; เข็มเบอร์ 18 หนึ่งโหล; กระบอกตวงขนาด 500 มล. 2 อัน; น้ำยา Phosphate-buffered saline (PBS) ที่มีส่วนผสม 2% Fetal calf serum (FCS) (PBS + 2% FCS); ยาชาชนิด Xylocaine HCl 2%; ยาล้างเชื้อ Dettol และยาปฏิชีวนะ; ขอบบึงคัมสั้ว; กรรไกร และถุงมือพลาสติกสำหรับผสมเทียม.

อุปกรณ์ในการตรวจหา และประเมินคุณภาพตัวอ่อน : หลอดดูดตัวอ่อน (Ministraw) ใช้หลอดพลาสติกที่เก็บน้ำเชื้อผสมเทียมแบบแช่แข็งขนาด 0.25 มล. ต่อเข้ากับเข็มเบอร์ 16 ปลายตัด และกระบอกฉีดยาบูเบอร์คิวลิน ขนาด 1 มล.; น้ำยาที่ใช้ประเมินคุณภาพและเก็บตัวอ่อนก่อนฝากคือ PBS + 20% FCS; กล้องไมโครสโคปออสโคป (Sterio microscope).

อุปกรณ์ในการย้ายฝากตัวอ่อน : Cassou A.I. gun; Sterile plastic sheath; หลอดพลาสติกขนาด 0.25 มล.

วิธีการ : เหนียวนำโคให้ตกไข่ครั้งละหลายฟอง และใช้โคตัวให้และโคตัวรับที่เป็นสัตว์พร้อมกันตามธรรมชาติ เริ่มฉีด FSH-P ในโคตัวให้วันที่ 11 หลังจากเป็นสัตว์ในขนาด 6, 5, 4, 3, 2 มก. วันละ 2 ครั้ง เข้า-เย็น นาน 5 วัน ฉีด $PGF_{2\alpha}$ ให้แก่โคตัวให้ 25 มก. หลังฉีด FSH-P แล้ว 72 ชม.

ตรวจการเป็นสัตว์วันละ 2 ครั้ง เข้า-เย็น ผสมพันธุ์โคตัวให้ด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่ตรวจคุณภาพแล้ว 2 ครั้ง ห่างกันช่วงละประมาณ 12 ชม. โดยใช้ 2, 2 โด๊ส ในการผสมครั้งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ.

การล้างเก็บตัวอ่อน : ดัดแปลงจากวิธีของ Jillella (1983) ซึ่งมีขั้นตอนต่างๆ ดังนี้ :

นำโคตัวให้เข้าช่องบังคับ ให้ขาหน้าสูงกว่าขาหลังเล็กน้อย เพื่อความสะดวกในการล้างเก็บตัวอ่อน. ทำความสะอาดบริเวณบั้นท้ายและหางด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อโรคหลายๆ ครั้ง ฉีดยา

ชา (Xylocaine hydrochloride) 2% เข้าช่องไขกระดูกสันหลัง ตรวจความรู้สึกแล้วใช้เข็มมัดปลายหางไปผูกไว้กับคอโค.

ล้างมดโคออกจากช่องทวารหนักให้หมด นับปริมาณคอร์ปัสลูเทียม (Corpora lutea) ที่รังไข่แต่ละข้าง ใช้ Cervix dilator ถ่างขยายคอมดลูก สอด Catheter ที่มี Stilette อยู่ภายใน เข้าไปยังปีกมดลูกทีละข้าง โดยใช้มือที่ล้างผ่านทวารหนักช่วย เมื่อปลาย Catheter ถึงใกล้บริเวณ Bifurcation แล้วดึง Stilette ออกประมาณ 5-10 ซม. จากนั้นดันเข้าไปเบาๆ เพื่อให้ปลายของ Catheter สอดไปตามลักษณะของปีกมดลูกที่โค้งงอ ใช้กระบอกฉีดยาฉีดลมเข้า Cuff ประมาณ 10-15 มล. ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของปีกมดลูก เพื่อตรึง Catheter ให้อยู่กับที่ Cuff จะอยู่บริเวณส่วนต้นของปีกมดลูก จากนั้นดึง Stilette ออก ปลายข้างหนึ่งของท่อน้ำยาเข้า-ออก ต่อเข้ากับ Three-way plastic Connector จากนั้นต่อปลายของท่อน้ำยาเข้ากับ Catheter ปลายของท่อน้ำยาออก ใส่ไว้ในกระบอกดวง ขนาด 500 มล. ที่วางอยู่บนพื้นและปลายท่อใส่เข้ากับขวดน้ำยาที่เตรียมไว้ (Syphon dipping) ใส่อากาศออกจากท่อน้ำยาเข้าตอนบนให้หมดก่อนต่อเข้ากับ Catheter ฉีดน้ำยาเข้าปีกมดลูกซ้ำๆ ประมาณ 20-50 มล. ขณะที่ปล่อยน้ำยาเข้ามือที่อยู่ในช่องทวารหนักจะต้องข้อนได้ปีกมดลูกข้างที่กำลังล้างเก็บตัวอ่อนและبيبบริเวณ Uterotubal junction (U.T.J.) ไว้ใช้การบังคับที่ใกล้กับ Three-way plastic Connector ด้วย Artery forcep ให้น้ำยาชะล้างไหลเข้า-ออก ลงกระบอกดวง ปล่อยน้ำยาให้ไหลเข้าและออกจากปีกมดลูก เช่นนี้หลายๆ ครั้ง ใช้น้ำยาประมาณ 500 มล. จากนั้นปล่อยลมออกจาก Cuff ดึง Catheter ออกจากปีกมดลูก ทำเช่นเดียวกันทั้ง 2 ปีกมดลูก เมื่อเสร็จจากการชำระล้างตัวอ่อนออกจากมดลูก แล้วใส่ยาปฏิชีวนะเข้ามดลูกและฉีด PGF_{2α} เข้ากล้ามเนื้อ.

การตรวจหาและประเมินคุณภาพตัวอ่อน : นำกระบอกดวงที่มีน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนแต่ละข้าง วางทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาทีถึง 1 ชั่วโมง ทำการลบน้ำส่วนบนออกให้เหลือน้ำยาประมาณ 100 มล. แกว่งกระบอกดวงเบาๆ เทเม็มน้ำยาใส่จานเลี้ยงเชื้อที่จัดตารางไว้ ใช้น้ำยาล้างเก็บตัวอ่อน ล้างกระบอกดวงอีกครั้งแล้วเทลงในจานเลี้ยงเชื้อนำไปตรวจหาตัวอ่อนจากจานเลี้ยงเชื้อแต่ละใบ จำนวน 3 ครั้ง ด้วยกล้องสเตอริโอสโคปกำลังขยาย 10-20 เท่า เมื่อพบตัวอ่อนแล้วแยกตัวอ่อนเก็บไว้ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำยา PBS + 20% FCS อยู่.

การประเมินคุณภาพ : ตูตตัวอ่อนใส่สไลด์หลุม นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100-200 เท่า ตามวิธีการของ Linder and Wright (1983) จะแบ่งคุณภาพตัวอ่อนออกเป็น 4 ระดับคือ :

(1) คุณภาพดีเลิศ (Excellent) ได้แก่ ตัวอ่อนที่มีลักษณะกลม Blastomere มีลักษณะสีสม่ำเสมอ (2) คุณภาพดี (Good) ได้แก่ ตัวอ่อนที่มี Blastomere ขึ้นออกมาเล็กน้อย รูปร่างไม่ค่อยสม่ำเสมอ (3) คุณภาพพอใช้ (Fair) ได้แก่ ตัวอ่อนที่มี Blastomere ขึ้นออกมาเป็นถุง มีบางเซลล์ฝ่อไป (4) คุณภาพเลว (Poor) ได้แก่ ตัวอ่อนที่มี Blastomere ขึ้นออกมาจำนวน

มาก บางเซลล์ฝ่อไป ขนาดของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปมาก มีถุงน้ำ (Vesicle) จำนวนมาก แต่ยังมีลักษณะ Viable appearing embryo mass อยู่. ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้จัดแบ่งเป็นกลุ่มตามระยะการเจริญเติบโตของตัวอ่อนของ Linder and Wright (1983) ดังนี้ :

ตัวอ่อนที่มีระยะการเจริญตรงตามอายุ ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้จากโคตัวให้หลังผสมพันธุ์แล้ว 7 วัน อยู่ในระยะ Morula, Compact morula และ Underdeveloped embryo เมื่อประเมินคุณภาพตัวอ่อนแล้วเก็บตัวอ่อนไว้ในน้ำยา PBS + 20% FCS จนกว่าจะถ่ายฝากให้แก่โคตัวรับต่อไป.

การเก็บข้อมูล ตรวจสอบสภาพของโคตัวให้ตามรายละเอียดดังนี้ : จำนวนคอร์ปัสลูเทียมที่รังไข่แต่ละข้างในวันที่ล้างเก็บตัวอ่อน (ตารางที่ 1), จำนวนและคุณภาพตัวอ่อนที่ล้างเก็บไว้ (ตารางที่ 2), ปริมาณน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนที่ไหลกลับคืน, ระยะเวลาที่โคตัวให้แสดงอาการเป็นสัดหลังจากที่ล้างเก็บตัวอ่อน.

Table 1. Reproductive tract of donor.

	Ovary	Before superovulation	After superovulation	Before flushing
Right	Size (cm)	4.0 x 2.5 x 1.5	5.0 x 4.0 x 3.5	6.0 x 4.0 x 3.5
	Number of follicle	-	6	Corpora lutea = 6
Left	Size (cm)	3.0 x 2.0 x 1.5	7.0 x 5.0 x 4.0	8.0 x 5.0 x 4.0
	Number of follicle	1	8	corpora lutea = 8

Table 2. Quality and assessment of embryo.

Stage	Quality				Total
	Excellent	Good	Fair	Poor	
Unfertilized egg	-	-	-	-	1
Morula	2	-	-	-	2
Compact Morula	3	-	1	-	4
Total	5	-	1	-	7

Table 3. Result of embryonic transfer in crossbred dairy cows in Ratchaburi province.

Name of recipients	Quality of embryo	Pregnancy diagnosis
DOG-KOON	Compact morula Fair	Non pregnant
PEN-SO-PA	Compact morula Excellent	Non pregnant
SRI-NUAN	Morula Excellent	Non pregnant
PO-TONG	Compact morula Excellent	Pregnant
GOR-RA-GA-DA	Compact morula Excellent	Non pregnant
KANG-LEG	Morula Excellent	Pregnant

การถ่ายฝากตัวอ่อนโดยวิธีนรีนัยกรรม ตัวอ่อนอายุ 7 วัน จำนวน 6 ตัว นำไปถ่ายฝากให้แก่โคตัวรับที่มีการเป็นสัดตามธรรมชาติ สอดคล้องกับโคตัวให้ จำนวน 6 ตัว (ที่ปีกมดลูกข้างหนึ่งเพียง 1 ตัว เท่านั้น) การถ่ายฝากตัวอ่อนดัดแปลงจากวิธีของ Jillella (1983) คือ : ดูดตัวอ่อนที่ใช้ถ่ายฝากเข้าหลอดพลาสติกขนาด 0.25 มล. โดยให้ตัวอ่อนอยู่ระหว่างฟองอากาศทั้งสองข้าง. บรรจุหลอดพลาสติกที่มีตัวอ่อนอยู่เข้ากับ Cassou A.I. gun และหุ้มด้วย Sterile plastic sheath แล้วหุ้มด้วย Plastic bag ขาวอีกที ใช้กระดานชำระเช็ดบริเวณปากช่องคลอดให้สะอาด ให้ผู้ช่วยใช้มือเปิดปากช่องคลอด สอด A.I. gun ที่มี Plastic bag ขาวหุ้มอีกที เข้าไปยังปากมดลูกแล้วดึง Plastic bag ขาวเข้าหาตัวผู้ทำเพื่อให้ A.I. gun ทะลุ Plastic bag แล้วสอด A.I. gun ผ่านปากมดลูกเข้าไปตามปีกมดลูกข้างที่มีคอร์ปัสลูเทียมอยู่ สอดให้เข้าลึกที่สุดเท่าที่จะทำได้แล้วฉีดให้ลูกอ่อนวางอยู่ในที่ที่เหมาะสม แล้วดึง A.I. gun ออก.

ตรวจการตั้งท้องในโคตัวรับ ตรวจผลการกลับสัดของโคตัวรับฝากให้แก่เจ้าของสัตว์ช่วยดู และให้แจ้งที่ศูนย์ฯ ด้วย หากไม่แสดงอาการเป็นสัดเมื่อระยะเวลาไปประมาณ 50-60 วัน หลังจากถ่ายฝากตัวอ่อนแล้วทำการตรวจท้องด้วยการสังเกตทางทวารหนัก (ตารางที่ 3).

ผลและวิจารณ์

ประสิทธิภาพการล้างเก็บตัวอ่อน : จากการล้างเก็บตัวอ่อนในวันที่ 7 น้ยาที่ชะล้างใส่เข้าไปแล้วไหลกลับออกมาประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของผู้ปฏิบัติงานเป็นปัจจัยสำคัญในการล้างเก็บตัวอ่อนได้มากหรือน้อย (Donaldson, 1984; Shelton *et al.*, 1979; Wilmut, 1980) และการนับคอร์ปัสลูเทียมโดยวิธีคลำผ่านทางทวารหนักก็อาจคลาดเคลื่อนได้ (Baker and Jillella, 1978; Donaldson, 1984) ซึ่ง Lindselle *et al.* (1985) รายงานว่าการนับจำนวนคอร์ปัสลูเทียมในโคตัวให้โดยการคลำผ่านทางทวารหนักจะน้อยกว่าที่นับได้จากรังไข่เมื่อสัตว์ตายแล้วถึงสองเท่า. ระยะการเจริญของตัวลูกอ่อนที่ล้างเก็บ ตัวอ่อนที่เก็บ

ได้ตามมาตรฐานของ Linda and Wright (1983) ปรากฏว่าตัวอ่อนวันที่ 7 ตรงตามอายุ 6 ตัว และไข่ผสมไม่ติด 1 ฟอง ตรงตาม Bakes and Jillella (1978) ซึ่งรายงานว่าตัวอ่อนที่สร้างเก็บวันที่ 6-7 มีไข่ผสมไม่ติด 14-26 เปอร์เซ็นต์. คุณภาพของตัวอ่อนที่ได้ในวันที่ 7 จากโคตัวให้นี้มีคุณภาพดีเลิศ จำนวน 5 ตัว คุณภาพพอใช้ได้ 1 ตัว และไม่เจริญ 1 ฟอง ตรงตามที่ Kimet *et al.* (1985) ที่รายงานว่าคุณภาพตัวอ่อนที่ปกติจะสูงประมาณ 79 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสร้างเก็บในวันที่ 7. การไหลกลับของน้ำยาที่ใช้สร้างเก็บตัวอ่อน จากที่ปฏิบัติมาโดยวิธีนิวเคลียสกรรมประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Chung *et al.* (1983) ส่วนน้ำยาชะล้างที่หายไป 10 เปอร์เซ็นต์ อาจเหลือค้างอยู่ในมดลูก, ปีกมดลูก หรือไหลผ่านท่อรังไข่ตกลงสู่ช่องท้อง. อายุตัวอ่อนที่ทำการถ่ายฝาก ไข่ตัวอ่อนอายุ 7 วัน เมื่อพิจารณาแล้วเห็นว่ามีความเหมาะสมในการถ่ายฝาก จึงทำการถ่ายฝากให้กับโคตัวรับ จำนวน 6 ตัว โดยฉีดฝากตัวละ 1 ตัว (Embryo) ตัวอ่อนที่ฉีดถ่ายฝากนี้อยู่ในระยะ Morula และ Compact Morula โดยวิธีนิวเคลียสกรรมปล่อยผสมตัวอ่อนตามปีกมดลูกให้ลึกที่สุดเท่าที่ทำได้ตาม Rowe *et al.* (1979) ทั้งนี้ผู้ปฏิบัติจะต้องอาศัยความชำนาญ เนื่องจากการสอดหลอดฉีดเชื้อลึกเกินไปอาจทำให้เกิดบาดแผลบริเวณปีกมดลูก ซึ่งจะขัดขวางการเจริญของตัวอ่อน และทำให้อัตราการตั้งท้องต่ำได้ (Brand and Drost, 1977; Schneider and Hahn, 1979; Wilmut, 1980) เมื่อทำการถ่ายฝากให้กับตัวรับแล้วได้สังเกตการไม่กลับเป็นสัด จนตัวรับฝากได้ล้มท้องประมาณ 50 วัน แล้วได้ทำการตรวจการตั้งท้องทางทวารหนัก พบว่ามีตัวรับฝากตั้งท้อง 2 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ 33.3 เปอร์เซ็นต์ ตรงตาม Schneida *et al.* (1979) ซึ่งรายงานไว้เมื่อใช้ตัวอ่อนอายุ 7 วัน ถ่ายฝากให้กับโคตัวรับการตั้งท้องเท่ากับ 14-63 เปอร์เซ็นต์ ตัวรับฝากตั้งท้องคลอดลูกเมื่อวันที่ 14 ตุลาคม 2531 เพศผู้ น้ำหนักแรกเกิด 28 กก. และตัวรับฝากอีกตัวหนึ่งคลอดลูกเมื่อวันที่ 24 ตุลาคม 2531 เพศเมีย น้ำหนักแรกเกิด 30 กก. อาการอื่นๆ ทั้งไปของสุขภาพลูกโคทั้งสองที่เกิดใหม่นี้ยังไม่พบอะไร ถึงอย่างไรก็ยังเฝ้าดูแลสุขภาพทั่วไปต่อไปอีก.

สรุป

การศึกษาประสิทธิภาพและผลการล้างเก็บตัวอ่อนจากโคตัวให้พันธุ์แท้ในวันที่ 7 จากวันผสมพันธุ์ ปรากฏว่าการล้างเก็บตัวอ่อนให้ตัวอ่อนมีคุณภาพดีที่สามารถนำไปใช้ถ่ายฝากให้กับตัวรับตั้งท้อง เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการล้างเก็บตัวอ่อน ปรากฏว่าคุณสมบัติของโคตัวให้มีความสัมพันธ์กับการประสบผลสำเร็จ การถ่ายฝากโดยวิธีนิวเคลียสกรรม ปรากฏว่าจากการถ่ายฝากตัวอ่อนคุณภาพดีเลิศ อายุ 7 วัน ระยะ Morula และ Compact Morula สามารถทำให้โคตัวรับตั้งท้องได้ 2 ตัว และในการเตรียมตัวรับนี้ให้เป็นสัดตามธรรมชาติและมีสภาพการเลี้ยงดูตามปกติที่ทางเจ้าของสัตว์เลี้ยงเป็นประจำไม่ได้จัดให้มีอะไรเป็นพิเศษ สรุปได้ว่าปัจจัยที่มีผลสำเร็จในการล้างเก็บและถ่ายฝากโดยวิธีนิวเคลียสกรรมมากที่สุดคือ ประสบการณ์และความชำนาญของผู้ที่ปฏิบัติงาน.

กิติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จำกัด และสมาชิกฯ ที่ให้ความช่วยเหลือทางด้านโคนมพันธุ์พรีโฮลสไตน์ ฟรีเซียน และโคนมตัวรับ เลือดโฮลสไตน์ ฟรีเซียน 75 เปอร์เซนต์ และขอขอบคุณต่อศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและการพลังงาน ไว้ ณ ที่นี้ด้วย ที่ให้ทุนมาดำเนินการฯ.

เอกสารอ้างอิง

- ด้งชนะวัฒน์, พินยา., อุดมประเสริฐ, คาวชัย., เกียรติสามารถ, สัมพันธ์., โลหะจิต, ชัยณรงค์., จันทร์ประทีป, พิศศักดิ์., โพธิ์ภักดิ์, ประสิทธิ์., และ โลหะจิต, จันทิมา. (2524). การเหนี่ยวนำให้กระปอกไข่เพิ่มขึ้นและกับลักษณะโดยไม่ว่าเพศ. รายงาน Case Conference ประจำปีการศึกษา 2524, คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 19.
- นิศวรรวณ, สมิต., นัศวไชยเดช, สมบุญ., ดันติขันธ์การ, กิตติ., โลหะจิต, ชัยณรงค์., จันทร์ประทีป, พิศศักดิ์., และ โพธิ์ภักดิ์, ประสิทธิ์. (2525). การถ่ายฝากลักษณะในควายโดยวิธีนรีดัยกรรม. รายงาน Case Conference ประจำปีการศึกษา 2526, คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 23.
- เมี่ยมละมัย, สุณิรัตน์., สว่างศรีบรรพต, สุพจน์., อธิคุณกิจ, ชัยยุทธ., โลหะจิต, ชัยณรงค์., จันทร์ประทีป, พิศศักดิ์., โพธิ์ภักดิ์, ประสิทธิ์., และวิวกุล, ปราชญ์. (2526). การถ่ายฝากลักษณะในโค รายงาน Case Conference ประจำปีการศึกษา 2527, คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วัชรพงศ์, ชัย., พงศ์ภักดิ์, คณิศ., เศรษฐวิวัฒน์, วิฑูร., โลหะจิต, พิศศักดิ์., และโพธิ์ภักดิ์, ประสิทธิ์. (2526). การพยายามเพื่อการถ่ายฝากลักษณะในควายโดยวิธีนรีดัยกรรม. รายงาน Case Conference ประจำปีการศึกษา 2526, คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 18.
- สิดยาพันธุ์, จำเนียร., สิงห์จันทร์, สัมพันธ์., สุจิต, วรณดา., สิริเวชพันธ์, สมพร., ควนใหญ่, สมพร., สุภวัตรวิวัฒน์, วิศุทธิ์., วัชรา, อุดม., และโพธิ์ภักดิ์, ประสิทธิ์. (2529). การผลิตไข่มากในควายธรรมชาติ เพื่อพัฒนาเทคนิคการถ่ายฝากลักษณะในโคนม. รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 24 ประจำปี 2529, ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, สาขาวิทยาศาสตร์, 27-29 มกราคม 2529, กรุงเทพฯ.
- สิงห์จันทร์, สัมพันธ์. (2526). เอกสารประกอบคำบรรยาย การถ่ายฝากลักษณะในสัตว์คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, สิงหาคม 2526.
- สิงห์จันทร์, สัมพันธ์., สุจิต, วรณดา., สิดยาพันธุ์, จำเนียร., สิริเวชพันธ์, สมพร., วัชรา, อุดม., สุภวัตรวิวัฒน์, วิศุทธิ์., และโพธิ์ภักดิ์, ประสิทธิ์. (2529). ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี การถ่ายฝากลักษณะในโคนมในประเทศไทย. รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 24 ประจำปี 2529 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, สาขาสัตวแพทย์, 27-29 มกราคม 2529, กรุงเทพฯ และสัตวแพทย์สาร ปีที่ 36 เล่ม 4, ธันวาคม 2528 : 367-682.
- สุจิต, วรณดา., สิดยาพันธุ์, จำเนียร., สิงห์จันทร์, สัมพันธ์., สิริเวชพันธ์, สมพร., ควนใหญ่, สมพร., วัชรา, อุดม., สุภวัตรวิวัฒน์, วิศุทธิ์., และ โพธิ์ภักดิ์, ประสิทธิ์. (2529). การประเมินคุณภาพของลักษณะเพื่อการพัฒนาทางเทคโนโลยีชีวภาพในโคนม รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 24 ประจำปี 2529, ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์, 27-29 มกราคม 2529, กรุงเทพฯ.
- Baker, A.A. and Jillilla, D. (1978). Techniques of Surgical and Non-surgical Collection of Superovulated Cows. Vet. Rec. 103 : 558-562.

- Brand, A. and Drost, M. (1977). Embryo Collection by Non-surgical Methods. In : Embryo Transfer in Farm Animals. Betteridge, K.J. (ed). Monograph No.16, Canada Department of Agriculture, Ottawa, P.16-19.
- Chung, K.S., Lee, H.T., Park, H.D. Chung, B.H. and Yoo, S.H. (1983). Twin induction by embryo transfer in cattle. III. Non-surgical recovery of embryo. Korean J. Animal Sci., 25(5): 408-412.
- Danaldson, L.E. (1984). Embryo Production in superovulated cows : Transferable embryo correlated with total embryos. Theriogenology. 21(4) : 517-524.
- Jillella, D. (1983). Embryo transfer technology and its application in the asia region. Asia Livestock. 8 : 108-111.
- Kim, H.S., OH, S.J., Yang, B.S., Lee, K.S. and Chung, K.S. (1985). Studies on the transfer in cattle. Korean J. Animal Sci., 27(4): 206-210.
- Linder, G.M. and Wright, R.W. Jr. (1983). Bovine embryo morphology and evaluation. Theriogenology. 20(4) : 407-416.
- Lindsell, C.E., Pawlyshyn, V., Bielanski, A. and Mapletoft, R.J. (1985). Superovulation of heifer with FSH-P beginning on four different days of the cycle. Theriogenology. 23(1) : 203.
- Rowe, R.E., Crister, J.K. and Ginter, O.J. (1979). Non-surgical embryo in cattle. Theriogenology. 11 (1) : 107.
- Schneider, U. and Hahn, J. (1979). Bovine embryo transfer in Germany. Theriogenology. 11(1) : 63-80.
- Shelton, J.N., Heath, T.D., Old, K.G. and Turnbull, G.E. (1979). Non-surgical recovery of eggs from single-ovulating bovines. Theriogenology. 11 : 149-152.
- Wilmot, I. (1980). Embryo transfer in cattle breeding. World Animal Rev. 35 : 30-35.